不同铬源对喂食高葡萄糖饲料鲤生长性能、血清生化指标及肝胰脏糖代谢酶活性的影响

崔　培[1,2]　孙金辉[2]　尹　帅[2]　程镇燕[2]　乔秀亭[2]　周歧存[1*]

（1.宁波大学海洋学院鱼类营养研究室，宁波 315211；2.天津农学院水产学院，天津市水产生态及养殖重点实验室，天津 300384）

摘　要：本试验旨在研究饲料中不同铬源对喂食高葡萄糖饲料鲤生长性能、血清生化指标及肝胰脏糖代谢酶活性的影响。配制 4 种纯化饲料，分别为不添加铬的基础饲料及基础饲料中分别添加三氧化二铬（Cr_2O_3）、吡啶羧酸铬（CrPic）和蛋氨酸铬（CrMet）的试验饲料，试验饲料中铬添加水平在 2.60 mg/kg（以**三价铬离子**计）左右。选择初始体重为（40.95±4.80） g 的鲤 720 尾，随机分为 4 组，每组设 3 个重复，每个重复 60 尾。每组饲喂 1 种饲料，饲喂基础饲料的为对照组。养殖周期为 60 d。结果表明：与对照组相比，添加 CrPic、CrMet 能显著提高鲤的增重率（WGR）、特定生长率（SGR）、饲料效率（FE）以及蛋白质效率（PER）（$P<0.05$）；添加 Cr_2O_3 能显著提高鲤的 WGR、SGR（$P<0.05$）；添加 3 种铬源对全鱼水分、灰分、蛋白质含量均无显著影响（$P>0.05$），添加 CrPic 和 CrMet 能显著提高全鱼脂肪含量（$P<0.05$）；添加 3 种铬源均能显著提高肌糖原含量（$P<0.05$），而肝糖原含量仅在 CrMet 组得到显著提高（$P<0.05$）；添加 CrMet 显著降低了血清甘油三酯（TG）和总胆固醇（TC）含量（$P<0.05$）；添加 CrMet 显著提高了鱼体胰岛素（INS）、胰岛素受体（ISR）、生长激素（GH）含量以及乳酸脱氢酶（LDH）和肌酸激酶（CK）活性（$P<0.05$），显著降低了血清葡萄糖和皮质醇（COR）含量（$P<0.05$）；添加 3 种铬源均显著提高了肝胰脏糖酵解途径丙酮酸激酶（PK）、己糖激酶（HK）活性（$P<0.05$），添加 CrPic、CrMet 能显著降低肝胰脏糖异生途径磷酸烯醇式丙酮酸激酶（PEPCK）活性（$P<0.05$）。综合得出，对于喂食高葡萄糖饲料的鲤而言，CrMet 在促进生长，提高饲料利用以及糖利用能力方面具有最明显的效果，CrPic 次之，而 Cr_2O_3 最差。

关键词：铬；生长性能；血清生化指标；糖代谢酶活性；鲤

收稿日期：2018-01-15

基金项目：浙江省重中之重一级学科(水产)开放基金（xkzsc1501）；天津市自然科学基金项目（14JCQNJC15100）；农业部热带亚热带水产资源利用与养殖重点实验室开放基金

作者简介：崔　培（1985-），女，天津人，博士研究生，从事水产动物营养与饲料学研究。E-mail: icp7410@hotmail.com

*通信作者：周歧存，教授，博士生导师，E-mail: zhouqicun@nbu.edu.cn

中图分类号：S963

糖（碳水化合物）是动物饲料中最廉价的能源物质，若能利用价格低廉的糖作为能源物质替代部分蛋白质，起到“蛋白质节约作用（protein-sparing effects）”，则不仅可以降低饲料蛋白质含量和成本，同时还可以保护渔业资源，减少养殖过程中氮排泄对水体的污染[1]。然而，与陆生动物相比，鱼类对糖的利用能力差[2-3]。饲料中糖水平过高会导致鱼类生长迟缓，饲料利用率降低，抗病力减弱，甚至是死亡[4-5]。

三价铬离子（Cr^{3+}）作为动物必需的微量元素形式，在机体糖、蛋白质、脂肪代谢中起重要作用[6-7]。研究发现，Cr^{3+}通过增强胰岛素(insulin,INS)的作用，进而提高机体葡萄糖耐量[8-9]。已有研究证实，Cr^{3+}能有效改善草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)[10]、虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)[11]、大黄鱼(*Larmichthys crocea*)[12]以及罗非鱼(*Oreochromis niloticus* × *Oreochromis aureus*)[13]的生长性能，增强莫桑比克罗非鱼[14]、虹鳟[15]的免疫机能，还可提高条纹鲈(*Morone saxatilis*)[16]的糖利用能力。此外，Cr^{3+}还能有效降低血浆中皮质醇(cortisol，COR)的含量，改善机体应激状态[17-18]。

目前，已有一些学者针对 Cr^{3+}在鲤生长、饲料利用方面的影响做了一些研究[19-20]，但这些研究所使用的铬源多是无机铬，而研究证实，与无机铬相比，有机铬具有更高的吸收率、生物活性及稳定性[21]，如畜禽动物中应用最为广泛的铬源——吡啶羧酸铬(CrPic)以及氨基酸螯合铬——蛋氨酸铬(CrMet)，这 2 种铬源分别是吡啶甲酸和蛋氨酸与 Cr^{3+}的螯合物，能够有效缓解矿物元素之间的拮抗竞争作用，有利于铬的吸收。关于有机铬作为鲤饲料添加剂的安全剂量及对其机体生理的作用的报道较少。本文以鲤利用较差的葡萄糖为糖源，比较 3 种不同形式的铬——无机铬、有机酸铬、氨基酸铬对喂食高葡萄糖饲料鲤生长性能、血清生化指标及肝胰脏糖代谢酶活性的影响，为铬在鲤配合饲料中的应用提供理论依据。

1 试验材料

1.1 试验饲料配制

以酪蛋白为蛋白质源、大豆油为脂肪源、葡萄糖为糖源配制4种纯化饲料，分别为不添加铬的基础饲料及基础饲料中分别添加Cr_2O_3、CrPic和CrMet的试验饲料，试验饲料中铬添加水平在2.60 mg/kg（以Cr^{3+}计）左右。其中，CrPic购自国药集团化学

试剂有限公司，有效含量98%，Cr含量为12.4%。CrMet购自湖北拓楚慷元医药化工有限公司有效含量为99%，Cr含量为80%。所有固体饲料原料均过80目筛，原料逐级放大混匀后，用双螺杆制粒机（华南理工大学机械工程研究所制造）制成颗粒饲料，每种饲料2种规格(直径为1.5和3.2 mm)，在烘箱(DK400，日本Yamato)中40 ℃烘干2 h，取出后自然风干，保存于-20 ℃冰箱中。试验饲料组成及营养水平见表1。

表 1　试验饲料组成及营养水平（风干基础）

Table 1　Composition and nutrient levels of experimental diets (air-dry basis)　　%

项目 Items	饲料 Diets			
	基础饲料 Basal diet	三氧化二铬 Cr_2O_3	吡啶羧酸铬 CrPic	蛋氨酸铬 CrMet
原料 Ingredients/%				
酪蛋白 Casein	35.00	35.00	35.00	35.00
豆油 Soybean oil	6.00	6.00	6.00	6.00
预混料 Premix	1.00	1.00	1.00	1.00
氯化胆碱 Choline chloride	0.20	0.20	0.20	0.20
微晶纤维素 Microcrystalline cellulose	19.00	19.00	19.00	19.00
羧甲基纤维素钠 Sodium carboxymethyl cellulose	2.00	2.00	2.00	2.00
磷酸二氢钙 $Ca(HPO_4)_2$	1.70	1.70	1.70	1.70
葡萄糖 Glucose	35.00	35.00	35.00	35.00
三氧化二钇 Yt_2O_3	0.10	0.10	0.10	0.10
合计 Total	100.00	100.00	100.00	100.00
额外添加 Extra supplementation/(mg/kg)				
三氧化二铬 Cr_2O_3		2.92		
吡啶羧酸铬 CrPic			16.46	
蛋氨酸铬 CrMet				2.52
营养水平 Nutrient levels				
粗蛋白质 CP/%	32.20	32.18	32.19	32.13
粗脂肪 CL/%	5.31	5.54	5.69	5.20
粗灰分 Ash/%	3.21	3.48	2.97	2.48
干物质 DM/%	91.74	91.74	91.77	91.13
铬 Cr/(mg/kg DM)	0.68	2.83	2.59	2.68

预混料为每千克饲料提供 The premix provided the following for per kg of diets：VA 6 000 IU，VD_3 2 000 IU，VE 60 mg，VK_3 10 mg，VB_1 9 mg，VB_2 9 mg，VB_6 7.5 mg，VB_{12} 0.03 mg，VC 90 mg，*D*-生物素 *D*-biotin 0.15 mg，*D*-泛酸 *D*- pantothenic acid 30 mg，叶酸 folic acid 3 mg，烟酰胺 nicotinamide 45 mg，肌醇 inositol 80 mg，Fe 140 mg，Cu 3.5 mg，Zn 40 mg，Mg 100 mg，Co 0.25 mg，I 0.5 mg，Se 0.3 mg，Mn 15 mg，乙氧基喹啉 ethoxyquin 5 mg。

1.2 试验鱼及饲养管理

试验鱼由天津市晨辉饲料有限公司养殖基地提供，运送到晨辉饲料有限公司养殖实验室后，暂养2周，期间投喂基础饲料（不添加Cr^{3+}），待试验鱼适应实验室环境后，选取健康、规格基本一致的试验鱼[初始体重为（40.95±4.80） g]，随机分配到12只800 L蓝色圆形塑料水箱中，每组设3个重复，每个重复投放试验鱼60尾。养殖模式为静水养殖。试验用水为曝气24 h以上的自来水，每天投喂2次（07:00、16:00），日投喂量约为体重的4%～6%。每2周调整1次投饲量。每天换水1次，同时吸底并收取粪便，换水量为总水量的1/3，饲养试验期间水温为15～25 ℃，pH 7.6～7.8，氨氮≤0.05 mg/L，溶解氧≥6.0 mg/L。养殖周期为60 d。

1.3 样品采集

经 60 d 饲养后，试验鱼禁食 24 h，经丁香酚（1:10 000）麻醉后，称重并记录尾数。每只水槽随机取 6 尾保存在-20 ℃冰箱中，用于体成分分析；另取 10 尾试验鱼，尾部采血，离心 5 min（4 ℃，3 500 r/min），取上清后保存，备用，用于检测血清生化指标；采血后的试验鱼于冰盘上解剖取肝胰脏和肌肉组织，用于检测糖代谢酶活性、糖原含量活性，所有样品于-80 ℃冰箱中保存，备用。

1.4 测定方法

试验饲料和鱼体常规营养成分的测定参照 AOAC(1995)[22]进行：水分含量测定采用恒重恒压干燥法(GB/T 5009.3-2010)；粗蛋白质、粗脂肪与粗灰分含量分别采用杜马斯燃烧法(GB/T 24318-2009，美国 Thermo 公司的 Thermo Fisher scientific FLASH2000 全自动蛋白质测定仪)、索氏抽提法(GB/T 5009.6-2010，德国 Gerhardt 公司的 Gerhardt SOXTHERM 索氏抽提仪)、灼烧重量法(GB/T 5009.4-2010)进行测定。饲料中铬含量采用原子吸收光谱法（石墨炉原子化法）测定。

肝胰脏、肌肉糖原含量的测定参考 Hassid 等[23]的方法，采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒。将肝胰脏或肌肉与强碱以 1:3（质量体积比）混合，沸水浴 20 min 溶解形成溶液，分别稀释为 1%和 5%的检测液，然后将其与浓硫酸反应形成乙醛，最后加入蒽酮，然后染色剂染色，使用分光光度计在 620 nm 下测定吸光度值。

血清葡萄糖(glucose,GLU)、甘油三酯(triglyceride,TG)、总胆固醇(total

cholesterol,TC)、高密度脂蛋白(high-density lipoprotein,HDL)、低密度脂蛋白(low-density lipoprotein,LDL)含量及肌酸激酶(creatine kinase,CK)、乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase,LDH)活性由天津市金域医学检验所检验，仪器为德国 Roche 公司的 Roche C311 全自动生化分析仪。血清 INS、胰高血糖素(glycogen,GC)、胰岛素受体(insulin receptor,ISR)、生长激素(growth hormone,GH)、COR 含量均采用酶联免疫吸附试验（ELISA）试剂盒测定，其中 INS、GC 试剂盒购自美国 Assay Designs 公司，ISR、GH 试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司。

肝胰脏已糖激酶(hexokinase,HK)、丙酮酸激酶(pyruvate kinase,PK)、琥珀酸脱氢酶(succinic acid dehydrogenase,SDH)活性采用南京建成生物工程研究所试剂盒测定，肝胰脏磷酸果糖激酶(phosphofructokinase,6-PFK1)、磷酸烯醇式丙酮酸激酶(phosphoenolpyruvate carboxykinase,PEPCK)、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glucose 6-phosphatase dehydrogenase,G6PDH)、糖原合成酶(glycogen synthase,GS)以及脂肪酸合成酶(fatty acid synthetase,FAS)活性采用双抗体夹心法测定，采用ELISA试剂盒(美国A ssay Designs)测定。测定方法严格按照试剂盒说明书进行，其中，所有ELISA试剂盒测定方法为在微孔中加入样品，然后加入相应的抗体，37 ℃温浴60 min，洗板5次后加入相应显色剂反应，最后加入终止液终止反应，测定各微孔吸光度值，计算活性。

1.5　计算公式

增重率(WGR,%)=$[(W_t-W_0)/W_0]\times100$；

特定生长率(SGR,%/d)=$[(\ln W_t-\ln W_0)/t]\times100$；

饲料效率(FE)=$(W_f+W_d-W_0)/C$；

蛋白质效率(PER)=$(W_t-W_0)/C_p$；

成活率(SR,%)=成活尾数/总尾数×100。

式中：W_0 为试验鱼初始体重；W_t 为试验鱼终末体重；t 为试验天数；C 为摄饵采食量；W_f 为试验鱼终末总重；W_d 为死亡试验鱼总重；W_i 为试验鱼初始总重；C_p 为蛋白质摄入量。

1.6　数据统计分析

采用SPSS 19.0软件对数据进行单因素方差分析(ANOVA)，若差异显著(P＜0.05)，则用Tukey’s法进行多重比较。所有数据均以平均值±标准差(mean±SD)表示。

2 结　果

2.1 不同铬源对喂食高葡萄糖饲料鲤生长性能的影响

不同铬源对喂食高葡萄糖饲料鲤生长性能的影响见表 2。由表可知，各组试验鱼的 SR 在 91.67%~95.00%，组间无显著差异(P>0.05)。铬源添加组 WGR、SGR 显著高于对照组(P<0.05)，最高值均出现在 CrMet 组，但与 CrPic 组相比，差异均不显著(P>0.05)。与对照组相比，CrPic 和 CrMet 组 FE 和 PER 显著提高(P<0.05)，Cr_2O_3 组无显著变化(P>0.05)。

表 2　不同铬源对喂食高葡萄糖饲料鲤生长性能的影响

Table 2　Effects of different chromium sources on growth performance of common carp fed high glucose diets

项目 Items	组别 Groups			
	对照 Control	三氧化二铬 Cr_2O_3	吡啶羧酸铬 CrPic	蛋氨酸铬 CrMet
初始体重 IBW	40.56±3.58	35.40±3.34	39.33±2.31	38.26±0.31
终末体重 FBW	91.00±6.22	90.01±9.83	101.35±3.81	104.88±15.86
增重率 WGR/%	124.70±7.42^{a}	146.05±6.80^{b}	157.92±5.76^{bc}	174.44±5.81^{c}
特定生长率 SGR/(%/d)	1.35±0.06^{a}	1.50±0.05^{b}	1.58±0.04^{bc}	1.68±0.04^{c}
饲料效率 FE	0.48±0.01^{a}	0.54±0.05^{ab}	0.60±0.03^{bc}	0.67±0.03^{c}
蛋白质效率 PER	1.63±0.07^{a}	1.82±0.20^{ab}	2.04±0.07^{bc}	2.26±0.08^{c}
成活率 SR/%	95.00±4.41	91.67±1.67	91.67±3.33	92.78±0.96

同行数据肩标不同字母表示差异显著(P<0.05)。下表同。

Values in the same row with different letter superscripts mean significant differences (P<0.05). The same as below.

2.2 不同铬源对喂食高葡萄糖饲料鲤常规营养成分的影响

不同铬源对喂食高葡萄糖饲料鲤常规营养成分的影响见表 3。由表可知，CrPic、CrMet 组全鱼脂肪含量显著高于对照组和 Cr_2O_3 组(P<0.05)。CrMet 组全鱼肝糖原含量显著高于对照组和 Cr_2O_3 组(P<0.05)。铬源添加组全鱼肌糖原含量显著提高(P<0.05)。各组全鱼水分、蛋白质、灰分无显著差异(P>0.05)。

表 3　不同铬源对喂食高葡萄糖饲料鲤全鱼常规营养成分的影响

Table 3　Effects of different chromium sources on common nutritional components of whole body of

common carp fed high glucose diets

项目 Items	组别 Groups			
	对照 Control	三氧化二铬 Cr_2O_3	吡啶羧酸铬 CrPic	蛋氨酸铬 CrMet
水分 Moisture/%	76.75±0.23	76.44±0.71	76.17±0.60	77.31±1.95
蛋白质 Protein/%	15.04±0.06	15.00±0.29	15.01±0.19	15.35±0.39
脂肪 Lipid/%	4.50±0.02^{a}	5.37±0.22^{a}	7.31±0.89^{b}	7.28±0.69^{b}
灰分 Ash/%	4.22±0.10	4.22±0.12	4.07±0.06	4.20±0.04
肝糖原 Hepatic glycogen/(mg/g)	26.75±4.30^{a}	28.87±3.18^{a}	34.27±4.72^{ab}	46.12±7.62^{b}
肌糖原 Muscle glycogen/(mg/g)	0.53±0.01^{a}	2.36±0.30^{b}	2.19±0.06^{b}	2.34±0.04^{b}

2.3 不同铬源对喂食高葡萄糖饲料鲤血清生化指标的影响

不同铬源对喂食高葡萄糖饲料鲤血清生化指标的影响见表 4。由表可知，与对照组相比，CrMet 组血清 TG 和 TC 含量显著降低(P<0.05)，Cr_2O_3 和 CrPic 组无显著比那话(P>0.05)。各组血清 HDL 和 LDL 含量无显著差异(P>0.05)。与对照组相比，CrMet 组血清 INS、ISR 含量显著提高(P<0.05)，而 Cr_2O_3、CrPic 组无显著变化(P>0.05)。与对照组相比，铬源添加组鲤血清 GH 含量和 LDH 活性均显著提高(P<0.05)，血清葡萄糖及 COR 含量显著降低(P<0.05)，且铬源添加组间均无显著差异(P>0.05)。与对照组相比，Cr_2O_3、CrMet 组血清 CK 活性均显著提高(P<0.05)，而 CrPic 组无显著变化(P>0.05)。各组血清 GC 含量无显著差异(P>0.05)。

表 4 不同铬源对喂食高葡萄糖饲料鲤血清生化指标的影响

Table 4 Effects of different chromium sources on serum biochemical indices of common carp fed high glucose diets

项目 Items	组别 Groups			
	对照 Control	三氧化二铬 Cr_2O_3	吡啶羧酸铬 CrPic	蛋氨酸铬 CrMet
甘油三酯 TG/(mmol/L)	1.01±0.01^{b}	1.08±0.04^{b}	0.99±0.09^{b}	0.76±0.05^{a}
总胆固醇 TC/(mmol/L)	3.75±0.28^{b}	3.49±0.47^{ab}	3.56±0.04^{ab}	2.82±0.34^{a}
高密度脂蛋白 HDL/(mmol/L)	2.26±0.27	2.47±0.26	2.40±0.27	2.77±0.06
低密度脂蛋白 LDL/(mmol/L)	0.34±0.01	0.34±0.05	0.25±0.02	0.36±0.02
葡萄糖 GLU/(mmol/L)	4.97±0.21^{b}	3.88±0.45^{a}	3.99±0.38^{a}	4.00±0.16^{a}
胰岛素 INS/(mIU/L)	4.13±0.32^{a}	4.53±0.39^{ab}	4.62±0.25^{ab}	4.96±0.20^{b}
胰岛素受体 ISR/(nmol/L)	62.98±1.20^{a}	70.94±9.83^{ab}	76.43±10.82^{ab}	90.39±7.31^{b}
胰高血糖素 GC/(pg/mL)	535.9±34.10	570.9±25.72	582.4±0.79	495.2±16.83
生长激素 GH/(μg/L)	8.05±0.38^{a}	12.31±0.55^{b}	12.73±1.47^{b}	11.97±0.51^{b}
皮质醇 COR/(nmol/L)	397.45±50.13^{b}	246.65±16.48^{a}	197.70±25.88^{a}	264.20±29.24^{a}
乳酸脱氢酶 LDH/(U/mL)	230.00±25.71^{a}	371.50±21.92^{b}	387.67±37.17^{b}	386.33±32.75^{b}
肌酸激酶 CK/(U/L)	1.91±0.17^{a}	6.00±0.53^{b}	2.50±0.29^{a}	5.34±0.38^{b}

2.4 不同铬源对喂食高葡萄糖饲料鲤肝胰脏糖代谢酶活性的影响

不同铬源对喂食高葡萄糖饲料鲤肝胰脏糖代谢酶活性的影响见表5。由表可知，与对照组相比，铬源添加组肝胰脏HK、PK活性均显著提高(P<0.05)。CrPic组肝胰脏SDH活性最高，显著高于其他各组(P<0.05)。与对照组相比，CrPic、CrMet组肝胰脏PEPCK活性显著降低(P<0.05)，肝胰脏FAS活性显著提高(P<0.05)。与对照组相比，铬源添加组肝胰脏GS活性显著提高(P<0.05)。各组肝胰脏6-PFK1和G6PDH活性无显著差异(P>0.05)。

表 5 不同铬源对喂食高葡萄糖饲料鲤肝胰脏糖代谢**酶活性**的影响

Table 5 Effects of different chromium sources on hepatopancreas glycometabolism enzyme activities of common carp fed high glucose diets

项目 Items	组别 Groups			
	对照 Control	三氧化二铬 Cr_2O_3	吡啶羧酸铬 CrPic	蛋氨酸铬 CrMet
丙酮酸激酶 PK/(U/g prot)	4.77±0.84^a	12.01±2.34^b	12.13±0.98^b	10.92±0.35^b
己糖激酶 HK/(U/mg prot)	14.62±1.15^a	21.39±1.65^b	36.79±0.79^c	18.99±1.37^b
6-磷酸果糖激酶 6-PFK1/(U/L)	84.39±1.38	98.47±6.09	93.89±6.57	96.38±2.45
琥珀酸脱氢酶 SDH/(U/mg prot)	2.27±0.18^a	2.81±0.25^a	5.15±0.00^b	3.38±0.60^a
磷酸烯醇式丙酮酸激酶 PEPCK/(ng/mL)	11.06±1.99^b	13.38±2.18^{ab}	6.17±0.42^a	7.77±0.22^a
葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 G6PDH/(ng/mL)	1.82±0.11	1.74±0.20	1.42±0.13	1.71±0.20
糖原合成酶 GS/(ng/mL)	4.53±0.65^a	8.64±0.42^b	9.50±1.40^b	8.11±0.72^b
脂肪酸合成酶 FAS/(ng/mL)	14.29±1.66^a	19.26±1.88^{ab}	22.34±2.14^b	22.69±2.11^b

3 讨 论

3.1 不同铬源对喂食高葡萄糖饲料鲤生长性能的影响

本试验结果显示，添加 3 种铬源均能提高鲤的生长性能，这与 Ahmed 等[19]用添加氯化铬($CrCl_3$)的饲料投喂鲤、潘庆等[24]用添加 CrPic 和烟酸铬(CrNic)的饲料投喂奥尼罗非鱼、Wang 等[12]用添加 CrNic 的饲料投喂大黄鱼以及在以葡萄糖为糖源的饲料中添加 Cr_2O_3、$CrCl_3$ 投喂罗非鱼[25-28]的研究结果相一致。而在饲料中添加 CrPic 对虹鳟和奥尼罗非鱼的生长性能没有显著影响[11,28-29]，类似的结果也出现在用添加酵母铬的饲料投喂金头鲷(*Sparus aurata*)[30]和虹鳟[31]的试验中，其原因可能与试验鱼的种类、铬的添加形式及水平、饲养环境条件、试验设计等因素有关。同时，本试验结果显示添加有机铬后对鲤生长的促进效果的影响要优于无机铬。一般认为，在生理环境下有机铬比无机铬具有更高的生物活性和稳定性，而且机体对有机铬的吸

收率要远高于无机铬，研究发现无机铬的吸收率仅为1%~3%[32]，而有机铬的吸收率为10%~25%[33]。因而，本试验结果可能因为添加有机铬组的试验鱼吸收更多的铬，更有效地促进了鲤的生长，这与刘太亮[34]对草鱼的研究结果相类似。

3.2 不同铬源对喂食高葡萄糖饲料鲤常规营养成分的影响

本试验结果显示，不同铬源对试验鱼体水分、蛋白质、灰分含量均无显著影响，而添加有机铬能显著提高鱼体脂肪含量，与已报道的罗非鱼的研究结果一致[28,35]。研究发现，Cr^{3+}能够通过协同INS发挥生物学功能，提高相关代谢酶的活性，从而参与机体营养物质的代谢，进而改变营养物质的沉积方向[36-37]。本试验中有机铬组试验鱼体脂肪含量的升高可能是添加有机铬后提高了肝胰脏FAS的活性，从而对全鱼脂肪含量产生影响，在猪饲料中添加铬后也发现了相类似的情况[38-39]。

葡萄糖在GS的催化作用下，经糖异生作用合成糖原贮存在机体各组织中，其中肝脏和肌肉是最主要的贮存场所[40]。Steele等[41]报道了$CrCl_3$能有效提高土耳其火鸡GS活性，促进机体糖异生作用，从而提高了肝糖原含量。本试验结果与上述报道相类似，在饲料中添加3种铬源均能显著提高试验鱼肌糖原含量，肝糖原含量也有所增加，添加CrMet的试验鱼肝糖原含量显著高于对照组。同时，对肝胰脏GS活性的检测结果发现3种形式铬均显著提高该酶的活性，表明3种铬源对于促进肝胰脏和肌糖原合成作用具有显著效果。类似的结果也出现在Campbell等[42]对小鼠的报道中。

3.3 不同铬源对喂食高葡萄糖饲料鲤血清生化指标的影响

铬元素对动物机体脂类代谢的主要作用是维持血液中正常胆固醇水平。研究发现，在饲料中添加CrPic可有效降低罗非鱼血清TC含量[43]。本试验结果与上述结果相类似，添加CrMet能有效降低试验鱼血清TG、TC含量，改善试验鱼血脂水平。而刘太亮[34]在草鱼饲料中添加不同形式铬后未发现对其血清TC含量产生影响。其原因可能是研究试验动物种类、饲料营养成分、养殖条件有所不同。

研究证实，Cr^{3+}能够有效加快血液中葡萄糖的消失速度，缩短葡萄糖的半衰期，从而降低血清中葡萄糖含量[44]。对罗非鱼的研究发现，添加不同铬源(Cr_2O_3、$CrCl_3$、CrPic、CrNic)均延迟了血清葡萄糖含量高峰的到来，降低了血清葡萄糖含量，提高了罗非鱼对饲料中糖的利用[24,25,28,43]。刘太亮[34]在草鱼饲料中分别添加了CrPic和

CrNic，结果发现这2种铬源均能有效降低草鱼血清葡萄糖含量，提高肝糖原含量，证实CrPic和CrNic能够提高草鱼对饲料中糖的利用率。本试验结果显示，CrMet能显著降低试验鱼血清葡萄糖含量，与上述结果相类似，而Cr_2O_3和CrPic没有对血清葡萄糖含量产生影响。这说明以CrMet形式存在的铬源可能促进了铬的吸收，增加了INS的敏感性，增强了鱼体糖代谢，从而降低了血清葡萄糖含量。血清中LDH活性在添加CrMet后显著升高也表明了鱼体糖代谢的增强。

Liu等[10]的研究发现，添加适量CrPic能显著提高草鱼血清INS含量。本试验与上述结果相类似，添加CrMet后试验鱼血清INS含量显著升高。研究发现，Cr^{3+}通过增加ISR含量或促进INS和细胞膜上的ISR结合，从而提高细胞对葡萄糖的敏感性[9,33]，本试验中CrMet组血清ISR含量显著升高这一结果也证实了此观点。同时，血清COR含量在添加3种铬源后均显著降低，这反映出典型的INS（合成代谢）与COR（分解代谢）间的代谢关系，即机体INS含量与COR含量呈反向相关，而不同形式铬的添加没有改变这种相关性。添加铬后试验鱼血清INS含量升高，证明了铬作为INS的辅因子来协同INS作用的生理学作用。类似的结果也出现在Sahin等[45]的研究中，该研究得出CrPic能够提高低温条件下产蛋鸡血浆INS含量，并显著降低血浆COR含量。

3.4　不同铬源对喂食高葡萄糖饲料鲤肝胰脏糖代谢酶活性的影响

Cr^{3+}通过调节葡萄糖代谢酶影响机体葡萄糖代谢。HK是肝胰脏利用葡萄糖的第1限速酶。在本试验中，添加3种铬源的肝胰脏HK活性均显著高于对照组，这可能是由于Cr^{3+}的添加直接刺激组织糖酵解途径，加速葡萄糖氧化，从而使得葡萄糖含量降低，ATP生成增加。然而，Ahmed等[19]报道在饲料中添加$CrCl_3$对鲤的HK活性没有显著影响。这种差异可能是由于铬的不同添加形式以及水平造成的。除了HK，6-PFK1和PK也是控制糖酵解途径速率的关键酶。PK催化的反应是葡萄糖生成丙酮酸的最后一步反应，即催化磷酸烯醇式丙酮酸转化成丙酮酸。本试验结果显示，喂食添加3种铬源饲料的鲤肝胰脏中PK的活性均显著上升，说明3种铬源能够促进糖酵解途径。

PEPCK催化糖异生作用的第一步，将草酰乙酸盐转变成磷酸烯醇式丙酮酸盐[46]。研究发现，Cr^{3+}能够通过在动物体内形成核酸衍生物从而直接抑制PEPCK活性[47]。Gardner等[48]证实了INS自身也可抑制PEPCK活性，这种抑制是通过抑制其*PEPCK*基

因的表达造成的，而铬具有协调INS作用的生物学作用，因此，铬的补充能够通过加强INS作用进一步间接抑制PEPCK活性。本试验结果与上述研究相类似，添加CrPic和CrMet显著抑制了鲤肝胰脏的PEPCK活性，PEPCK活性的减少可能导致糖异生作用减缓，从而减少内源性葡萄糖的生成。

G6PDH是糖代谢的磷酸戊糖途径的关键酶，它促使磷酸戊糖核酸合成、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸（NADPH）的合成反应并维持细胞的氧化还原状态[49]。本试验中，添加3种铬源未均对G6PDH活性产生显著影响，这与Pan等[29]对罗非鱼的研究结果相一致。

4 结 论

在葡萄糖含量为35%的饲料中分别添加2.92 mg/kg Cr_2O_3、16.46 mg/kg CrPic、2.52 mg/kg CrMet **对于鲤的生长、饲料利用以及糖利用能力均有促进效果，**其中以CrMet效果最好，CrPic次之，而Cr_2O_3效果最差。

参考文献：

[1] HATLEN B,GRISDALE-HELLAND B,HELLAND S J.Growth,feed utilization and body composition in two size groups of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) fed diets differing in protein and carbohydrate content[J].Aquaculture,2005,249(1/2/3/4):401–408.

[2] HEMRE G I,MOMMSEN T P,KROGDAHL A.Carbohydrates in fish nutrition:effects on growth,glucose metabolism and hepatic enzymes[J].Aquaculture Nutrition,2002,8(3):175–194.

[3] STONE D A J.Dietary carbohydrate utilization by fish[J].Reviews in Fisheries Science,2003,11(4):337–369.

[4] LI X F,LIU W B,LU K L,et al.Dietary carbohydrate/lipid ratios affect stress,oxidative status and non-specific immune responses of fingerling blunt snout bream,*Megalobrama amblycephala*[J].Fish & Shellfish Immunology,2012,33(2):316–323.

[5] 戈贤平,刘波,谢骏,等.饲料中不同碳水化合物水平对翘嘴红鲌生长及血液指标和糖代谢酶的影响[J].南京农业大学学报,2007,30(3):88–93.

[6] JEEJEEBHOY K N,CHU R C,MARLISS E B,et al.Chromium deficiency,glucose

intolerance and neuropathy reversed by chromium supplementation in a patient receiving long-term total parenteral nutrition[J].The American Journal of Clinical Nutrition,1977,30(4):531–538.

[7] SHWARTZ K,MERTZ W.Chromium（Ⅲ）and glucose tolerance factor[J].Archives of Biochemistry and Biophysics,1959,85(1):292–295.

[8] ANDERSON R A,MERTZ W.Glucose tolerance factor:an essential dietary agent[J].Trends in Biochemical Sciences,1977,2(12):277–279.

[9] HOFFMAN N J,PENQUE B A,HABEGGER K M,et al.Chromium enhances insulin responsiveness via AMPK[J].The Journal of Nutritional Biochemistry,2014,25(5):565–572.

[10] LIU T L,WEN H,JIANG M,et al.Effect of dietary chromium picolinate on growth performance and blood parameters in grass carp fingerling,*Ctenopharyngodon idellus*[J].Fish Physiology and Bioehemistry,2010,36(3):565–572.

[11] SELCUK Z,TIRIL S U,ALAGIL F,et al.Effects of dietary *L*-carnitine and chromium picolinate supplementations on performance and some serum parameters in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J].Aquaculture International,2010,18(2):213–221.

[12] WANG J,AI Q H,MAI K S,et al.Dietary chromium polynicotinate enhanced growth performance,feed utilization,and resistance to *Cryptocaryon irritans* in juvenile large yellow croaker (*Larmichthys crocea*)[J].Aquaculture,2014,432:321–326.

[13] PAN Q,LIU S,ZHENG C,et al.The effect of chromium-nicotinic acid on growth,feed utilization and tissue composition in hybrid tilapia,*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*[J].Acta Hydrobiologica Sinca,2002,26(2):197–200.

[14] ARUNKUMAR R I,RAJASEKARAN P,MICHAEL R D.Differential effect of chromium compounds on the immune response of the African mouth breeder *Oreochromis mossambicus* (Peters)[J].Fish & Shellfish Immunology,2000,10(8):667–676.

[15] GATTA P P,THOMPSON K D,SMULLEN R,et al.Dietary organic chromium supplementation and its effect on the immune response of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J].Fish & Shellfish Immunology,2001,11(5):371–382.

[16] RAWLES S D,GATLIN D M.Carbohydrate utilization in striped bass (*Morone saxatilis*) and sunshine bass (*Morone chrysops*×*M. saxatilis*)[J].Aquaculture,1998,161(1/2/3/4):201–212.

[17] WEDEMEYER G A.Effects of rearing conditions on the health and physiological quality of fish in intensive culture[M]//IWAMA G K,PICKERING A D,SUMPTER J P,et al.Fish stress and health in aquaculture.Cambridge:Cambridge University Press,1997:35–71.

[18] MARCELLO P C,GUSTAVO S C,THALITA R P,et al.Acute aerocystitis in Nile tilapia bred in net cages and supplemented with chromium carbochelate and Saccharomyces cerevisiae[J].Fish & Shellfish Immunology,2014,36(1):284–290.

[19] AHMED A R,MOODY A J,FISHER S A,et al.Growth performance and starch utilization in common carp (*Cyprinus carpio* L.) in response to dietary chromium chloride supplementation[J].Journal of Trace Elements in Medicine Biology,2013,27(1):45–51.

[20] HERTZ Y,MADER Z,HEPHER B,et al.Glucose metabolism in the common carp (*Cyprinus carpio* L.):the effects of cobalt and chromium[J].Aquaculture,1989,76(3/4):255–267.

[21] EVANS G W,BOWMAN T D.Chromium picolinate increases membrane fluidity and rate of insulin internalization[J].Journal of Inorganic Biochemistry,1992,46(4):243–250.

[22] AOAC.Official methods of analysis of AOAC international[S].16th ed.Arlington:AOAC International,1995.

[23] HASSID W Z.Chemical procedures for analysis of polysaccharides[J].Methods in Enzymology,1957,3:34–50.

[24] 潘庆,毕英佐,颜惜玲,等.有机铬对奥尼罗非鱼生长和糖利用的影响[J].水生生物学报,2002,26(4):393–399.

[25] SHIAU S Y,LIN S F.Effect of supplemental dietary chromium and vanadium on the utilization of different carbohydrates in tilapia,*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*[J].Aquaculture,1993,110(3/4):321–330.

[26] SHIAU S Y,LIANG H S.Carbohydrate utilization and digestibility by tilapia,*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*,are affected by chromic oxide inclusion in the diet[J].The Journal of

Nutrition,1995,125(4):976–982.

[27] SHIAU S Y,SHY S M.Dietary chromic oxide inclusion level required to maximize glucose utilization in hybrid tilapia,*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*[J].Aquaculture,1998,161(1/2/3/4):357–364.

[28] SHIAU S Y,CHEN M J.Carbohydrate utilization by tilapia (*Oreochromis niloticus*×*O. aureus*) as influenced by different chromium sources[J].The Journal of Nutrition,1993,123(10):1747–1753.

[29] PAN Q,LIU S,TAN Y G,et al.The effect of chromium picolinate on growth and carbohydrate utilization in tilapia,*Oreochromis niloticus*×*Oreochromis aureus*[J].Aquaculture,2003,225(1/2/3/4):421–429.

[30] GATTA P P,PIVA A,PAOLINI M,et al.Effects of dietary organic chromium on gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) performances and liver microsomal metabolism[J].Aquaculture Research,2001,32(1):60–69.

[31] BUREAU D P,KIRKLAND J B,CHO C Y.The effects of dietary chromium supplementation on performance,carcass yield and blood glucose of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed two practical diets[J].Journal of Animal Science,1995,73(1S):194–194.

[32] MERTZ W.Chromium occurrence and function in biological systems[J].Physiological Reviews,1969,49(2):163–239.

[33] SEERLEY R W.Organic chromium and manganese in human nutrition[C]//Proceeding of Alltech’s ninth annual symposium.Lyons：[s.n.],1993:41–51.

[34] 刘太亮.草鱼对饲料中铬需要量的研究[D].硕士学位论文.武汉:华中农业大学,2009.

[35] 孙敏敏.有机铬对尼罗罗非鱼生长、*IR* 和 *GLUT* 基因表达的影响[D].硕士学位论文.泰安:山东农业大学,2013.

[36] PAGE T G,SOUTHERN L L,WARD T L,et al.Effect of chromium picolinate on growth and serum and carcass traits of growing-finishing pigs[J].Journal of Animal Science,1993,71(3):656–662.

[37] BOLEMAN S J,BIDNER T D,MCMILLIN K W,et al.Effects of *Postmortem* time of calcium chloride injuction on beef tenderness and drip,cooking and total loss[J].Meat Scuence.1995,39(1):5–41.

[38] MOONEY K W,CROMWELL G L.Efficacy of chromium picolinate and chromium chloride as potential carcass modifiers in swine[J].Journal of Animal Science,1997,75(10):2661–2671.

[39] GANG X,XU Z R,WU S H,et al.Effects of chromium picolinate on growth performance,carcass charcteristies,serum metabolites and metabolism of lipid in pig[J].Asian-Australlan Journal of Animal Science,2001,14(2):258–262.

[40] NRC.The role of chromium in animal nutrition[S].Washington,D.C.:National Academy Press,2012.

[41] STEELE N C,ROSEBROUGHT R W.Effect of trivalent chromium on hepatic lipogenesis by the turkey poult[J].Poultry Science,1981,60(3):617–622.

[42] CAMPBELL W W,POLANSKY M M,BRYDEN N A,et al.Exercise training and dietary chromium effects on glycogen synthase,phosphorylase and total protein in rats[J].The Journal of Nutriton,1989(4):653–660.

[43] 李洪霞.吡啶甲醇铬对罗非鱼生长,肌肉品质及抗应激能力的影响[D].硕士学位论文.泰安:山东农业大学,2014.

[44] AMOIKON E K,FERNANDEZ J M,SOUTHERN L L,et al.Effect of chromium tripicolinate on growth,glucose tolerance,insulin sensitivity,plasma metabolites,and growth hormone in pigs[J].Journal of Animal Science,1995,73(4):1123–1130.

[45] SAHIN N,ONDERCI M,SAHIN K.Effects of dietary chromium and zinc on egg production, egg quality,and some blood metabolites of laying hens reared under low ambient temperature[J].Biological Trace Element Research,2002,85(1):47–58.

[46] NRC.Nutrient requirements of fish and shrimp[S].Washington,D.C.:National Academies Press,2011.

[47] KRAMER P,NOWAK T.The preparation and characterization of Cr（Ⅲ）and Co（Ⅲ）

complexes of GDP and GTP and their interactions with avian phosphoenolpyruvate carboxykinase[J].Journal of Inorganic Biochemistry,1988,32(2):135–151.

[48] GARDNER G E,PETHICK D W,SMITH G.Effect of chromium chelative supplementation of the metabolism of glycogen and lipid in adult Merino sheep[J].Australia Journal of Agriculture Research,1988,49:137.

[49] CAPPAI G,SONGINI M,DORIA A,et al.Increased prevalence of proliferative retinopathy in patients with type Ⅰ diabetes who are deficient in glucose-6-phosphate dehydrogenase[J].Diabetologia,2011,54(6):1539–1542.

Effects of Different Chromium Sources on Growth Performance, Serum Biochemical Indices and Hepatopancreas Glycometabolism Enzyme Activities of Common Carp Fed High Glucose Diets

CUI Pei[1,2] SUN Jinhui[2] YIN Shuai[2] CHENG Zhenyan[2] QIAO Xiuting[2] ZHOU Qicun[1*]

(*1. Laboratory of Fish Nutrition*， *School of Marine Sciences*，*Ningbo University*， *Ningbo* 315211， *China;* 2. *Tianjin Key Laboratory of Aqua-Ecology and Aquaculture, Fisheries Science Department, Tianjin Agricultural University, Tianjin* 300384, *China*)

Abstract: A 60-day feeding trial was conducted to evaluate the effects of different chromium sources on growth performance, serum biochemical indices and hepatopancreas glycometabolism enzyme activities of common carp fed high glucose diets. Four purification diets were formulated including a basal diet without chromium supplementation and three experimental diets [the basal diet supplemented with chromic oxide (Cr_2O_3), chromium pyridine carboxylate (CrPic) and methionine chromium (CrMet), respectively], and chromium supplemental level [calculated as trivalent chromic ion (Cr^{3+})] in experimental diets was about 2.60 mg/kg, respectively, and the basal diet (without chromium). A total of 720 common carps with initial body weight of（40.95±4.80） g were selected and randomly divided into four groups with 3 replicates per group and 60 carps per replicate. Each diet was fed to one of the groups, and the group fed the basal diet was control group. The results showed as follows: compared with

control group, the supplementations of CrMet and CrPic significantly increased weight gain rate (WGR), specific growth rate (SGR), protein efficiency ratio (PER) and feed efficiency (FE) ($P<0.05$); the supplementation of Cr_2O_3 significantly increased WGR and SGR ($P<0.05$); the supplementations of three sources of chromium had no significant effects on content of moisture , protein and ash of whole body ($P<0.05$), while lipid content of whole body was significantly increased by the supplementations of CrPic and CrMet ($P<0.05$); muscle glycogen content was significantly increased by the supplementations of that were fed the basal diet were lower than those given the other diets($P>0.05$), and hepatic glycogen content was significantly increased by the supplementation of CrMet ($P<0.05$); serum cholesterol (TC) and triglyceride (TG) contents were significantly decreased by the supplementation of CrMet ($P<0.05$); the contents of insulin (INS), insulin receptor (ISR) and growth hormone (GH), and the activities of lactate dehydrogenase (LDH) and creatine kinase (CK) in serum were significantly increased by the supplementation of CrMet ($P<0.05$), while the contents of glucose and cortisol (COR) in serum were significantly decreased ($P<0.05$); the supplementations of three sources of chromium significantly increased the activities of hexokinase (HK) and pyruvate kinase (PK) in embden-meyerhof-parnas pathway ($P<0.05$), but significantly decreased the activities of phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) activities in glyconeogenesis pathway in hepatopancreas ($P<0.05$). In conclusion, dietary supplementation of CrMet has the most obvious effects on promoting growth, improving feed utilization and glucose utilization of common carp fed high glucose, the next in order is CrPic**, and the effects of** Cr_2O_3 are not so good.

Key words: chromium; growth performance; serum biochemical indices; glycometabolism enzyme activity; common carp